Cellular Therapy and Transplantation (CTT). Vol. 6, No. 3 (20), 2017
Submitted: 04 September 2017, accepted: 29 September 2017

Delayed hematopoietic and immune reconstitution after allogeneic stem cell transplantation in children with aplastic anemia and mixed chimerism

Victoria A. Lavrinenko[1], Yulia E. Mareiko[1], Olga V. Krasko[2], Ekaterina Yu. Berezovskaya[1], Olga V. Aleynikova[1]
[1]Belarusian Research Center for Pediatric Oncology, Hematology and Immunology, Minsk, Belarus
[2]United Institute of Informatics Problems, National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

Contact: Dr. Victoria A. Lavrinenko
E-mail: lavrinenkovictoria@gmail.com

Introduction

Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (alloHSCT) is an effective curative option for patients with aplastic anemia (AA). Chimerism monitoring provides information on donor cell engraftment after alloHSCT. Whereas stable mixed chimerism (MC) is considered a favorable outcome in rare graft-versus-host disease (GvHD) development, there is no information about differences in cell reconstitution according to the chimerism level. The aim of our study was to compare hematopoietic and immune reconstitution in AA patients with MC and full donor chimerism (FDC) developing after alloHSCT.

Patients and methods

The study included 16 HSCT with reduced intensity conditioning (RIC) performed in patients of 1 to 19 years old (a median of 11 y.o.) with AA (11, severe AA; 2, Fanconi anemia; 2, Diamond–Blackfan anemia; 1, with congenital type II amegakaryocytic thrombocytopenia). On days +30, +45, +60, +80, +100, +140, +180, +245, +365 after alloHSCT, a standard immunologic assay was performed, and chimerism was determined by PCR of STR markers in peripheral blood and/or bone marrow. If chimerism level was 97-100%, the result was confirmed by Real-time PCR of InDel polymorphisms as more sensitive method.

Results

During the first year after alloHSCT, 9 patients had FDC (98-100%) and 7 had MC (5-98%). FDC was associated with earlier engraftment in all cell lineages and earlier independence on red cell (p=0.013) and platelet (p=0.014) transfusions compared to MC. BM patients with FDC had more myelokaryocytes [the effect size (ES) was 84.6(21.1-148.1)*10^9/L; p=0.011], and erythroid cells [ES, 35.8 (10.1-61.5)*10^9/L; p=0.008] on day+30, more megakaryocytes [ES, 0.03 (0.002-0.057) *10^9/L; p=0.037] on day+365.

Over the first year, patients with FDC had higher average leukocyte levels [ES 2.5(1.4-3.7)*10^9/L; p=0.004], neutrophils [ES 1.73(1.0-2.4)*10^9/L; p=0.0001], monocytes (ES 0.15(0.05-0.24)*10^9/L; p=0.007) in peripheral blood. The leukocyte counts achieved normal levels on day+30 in DC group, and on day +365 in MC group, whereas lymphocytes returned to normal values on day+245 and on day+365, accordingly.

The FDC group had higher lymphocyte levels [on day+245 ES 1.1(0.5-1.7)*10^9/L; p=0.0009; on day+375 ES 0.97(0.4-1.6)*10^9/L; p=0.0012], B-lymphocyte levels [on day+245, ES was 0.27(0.11-0.42)*10^9/L; p=0.0011; on day+375, ES 0.25(0.11-0.38)*10^9/L; p=0.0003], T lymphocyte level [on day+245, ES was 1.2(0.5-1.8)*10^9/L; p=0.0008; on day+375 ES 0.6(0.03-1.1)*10^9/L; p=0.04], CD8+T-lymphocyte level [on day+245, ES 1(0.5-1.4)*10^9/L; p=0.0001; on day+375 ES 0.5(0.1-0.8)*10^9/L; p=0.017]. There was no difference in CD4+T, NK and NKT cell reconstitution.

In contrast, the levels of activated T cells (CD3+HLA-DR+) were higher in MC group on day+45 [ES 0.31(0.04-0.59)*10^9/L; p=0.03], then decreased in MC group, being higher in FDC group on day+245 [ES 0.56(0.2-0.9)*10^9/L; p=0.0023]. An increase of activated T-cells in FDC group occurred gradually and activated T-cells achieved normal levels on day+60. In MC group, activated T-cells had normal levels from day+30 till day+365, however, there was a rapid increase in amount of the activated T-lymphocytes at day+45 compared to day+30 (p=0.031), followed by a decrease on day+80. Moreover, we observed a long persistence of MC in T-cell subpopulation, while other cell lineages retained FDC.

Residual host T-cells in MC could be activated by donor alloantigenes after HSCT that, probably, leading to delayed hematopoietic and immune reconstitution.

Conclusion

MC after alloHSCT in patients with AA was associated with delayed hematopoietic and immune recovery and long transfusion dependence.

Keywords

Chimerism, aplastic anemia, allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, hematopoietic and immune reconstitution, children.

Отсроченное восстановление гемо- и иммунопоэза после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток при смешанном химеризме у детей с апластической анемией с миелопролиферативными заболеваниями и миелодиспластическим синдромом

Виктория А. Лавриненко[1], Юлия Е. Марейко[1], Ольга В. Красько[2], Екатерина Ю. Березовская[1], Ольга В. Алейникова[1]

[1]ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии», Минск, Республика Беларусь

[2]Объединенный институт проблем информатики Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь

Введение

Аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (аллоТГСК) является эффективным методом лечения пациентов с апластической анемией (АА). Исследование химеризма позволяет определить приживление донорских клеток после аллоТГСК. Тогда как при АА стабильный смешанный химеризм (СХ) считается благоприятным исходом с низкой частотой развития реакции «трансплантат-против-хозяина» (РТПХ), восстановление кроветворения в зависимости от уровня химеризма не изучено. Целью работы было сравнение гематологического и иммунологического восстановления при СХ и полном донорском химеризме (ПДХ) у пациентов с АА после аллоТГСК.

Пациенты и методы

В исследование включено 16 RIC-ТГСК, проведенных у пациентов 1-19 (медиана 11) лет с АА (11 с тяжелой АА, 2 с анемией Фанкони, 2 с анемией Блекфана–Даймонда, 1 с врожденной амегакариоцитарной тромбоцитопенией II типа). На +30, +45, +60, +80, +100, +140,+180, +245, +365 дни после аллоТГСК проводились стандартная иммунограмма и анализ химеризма методом мультиплексной ПЦР маркеров STR в периферической крови (ПК) и/или костном мозге (КМ). Если уровень химеризма был 97-100%, результат подтверждался более чувствительным методом ПЦР в реальном времени InDel полиморфизмов.

Результаты

В течение первого года после аллоТГСК у 9 пациентов был ПДХ (98-100%) и у 7 – СХ (5-98%). ПДХ по сравнению со СХ был ассоциирован с более ранним восстановлением всех трех ростков кроветворения и более ранней независимостью от трансфузий эритро- (p=0.013) и тромбомассы (p=0.014). В КМ у пациентов с ПДХ на +30 день был выше уровень миелокариоцитов (размер эффекта (РЭ) 84,6(21,1-148,1)*10^9/l, p=0.011) и ядросодержащих клеток эритроидной линии (РЭ 35.8(10.1-61.5)*10^9/l, p=0.008), а также на +375 день больше мегакариоцитов (РЭ 0.03(0.002-0.057)*10^9/l, p=0.037).

В течение первого года после аллоТГСК у пациентов с ПДХ был выше средний уровень лейкоцитов (РЭ 2.5(1.4-3.7)*10^9/l, p=0.004), нейтрофилов (РЭ 1.73(1.0-2.4)*10^9/l, p=0.0001), моноцитов (РЭ 0.15(0.05-0.24)*10^9/l, p=0.007). Уровень лейкоцитов выше нижней границы нормы достигался уже с +30 дня в группе с ПДХ по сравнению с +365 днем в группе со СХ, а лимфоцитов – на +245 день и на +365 день соответственно. При ПДХ был выше средний уровень лимфоцитов (на +245 день РЭ 1.1(0.5-1.7)*10^9/l, p=0.0009; на +375 день РЭ 0.97 (0.4-1.6)*10^9/l, p=0.0012), в том числе В-лимфоцитов (на +245 день РЕ 0.27(0.11-0.42)*10^9/l, p=0.0011; на +375 день РЭ 0.25(0.11-0.38)*10^9/l, p=0.0003), Т-лимфоцитов (на +245 день РЭ 1.2(0.5-1.8)*10^9/l, p=0.0008; на +375 день РЭ 0.6(0.03-1.1)*10^9/l, p=0.04), CD8+ Т-лимфоцитов (на +245 день РЭ 1(0.5-1.4)*10^9/l, p=0.0001; на +375 день РЭ 0.5(0.1-0.8)*10^9/l,

p=0.017). Восстановление CD4+ Т-лимфоцитов, ЕК и ЕКТ-клеток не различалось в группах. В противоположность, на +45 день уровень активированных Т-лимфоцитов (CD3+HLA-DR+) был выше в группе со СХ (РЭ 0.31(0.04-0.59)*109/l, p=0.03), затем он снизился у пациентов со СХ, и на +245 день уровень активированных Т-лимфоцитов был выше в группе с ПДХ (РЭ 0.56(0.2-0.9)*10^9/l, p=0.0023). В группе с ПДХ рост количества активированных Т-лимфоцитов происходил постепенно и достигал нормы приблизительно на +60 день. В группе со СХ количество активированных Т-лимфоцитов находилось в пределах нормы с +30 до +365 дня, однако отмечался быстрый рост количества активированных Т-лимфоцитов на +45 день по сравнению с +30 днем (p=0.031), а затем к +80 дню происходило их снижение. Кроме того, мы наблюдали долительное персистирование СХ в Т-клетках, тогда как другие субпопуляции были ПДХ. Вероятно, остаточные Т-клетки реципиента активируются в ответ на аллоантигены после ТГСК, что может приводить к отсроченному восстановлению гемо- и иммунопоэза.

Заключение

СХ у пациентов с АА после аллоТГСК ассоциирован с отсроченным гематологическим и иммунологическим восстановлением и длительной зависимостью от гемотрансфузий.

Ключевые слова

Химеризм, апластическая анемия, аллогенная трансплантация гемопоэтических стволовых клеток, восстановление гемо- и иммунопоэза, дети.